

荸荠英提取物抑菌特性初探

郝淑贤¹, 刘欣², 黄卉², 陈永泉², 石红¹

(¹中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300; ²华南农业大学食品学院, 广东 广州 510642)

摘要: 采用平板涂布法、滤纸片法等对荸荠英提取物的抑菌活性进行了初步研究。发现其乙醇提取物具有一定的抗菌活性, 在 pH 7 条件下, 提取物对细菌具有较好的抑菌效果, 其中对金色葡萄球菌的最低抑菌质量浓度为 0.63 g/L, 对大肠杆菌、枯草芽孢杆菌的最低抑菌质量浓度均为 1.25 g/L, 强于山梨酸钾, 而对霉菌、酵母的抑菌效果则较差, 弱于山梨酸钾。

关键词: 荸荠英; 抑菌特性; 最低抑菌浓度

中图分类号: TS201.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-411X(2006)03-0115-03

Study on Antimicrobial Effects of Puchiin Extracts

HAO Shu-xian¹, LIU Xin², HUANG Hui², CHEN Yong-quan², SHI Hong¹

(¹ South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300, China;

² College of Food Science, South China Agric. Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Ethanol extracts of puchiin were assayed for its antimicrobial properties. The result showed puchiin extracts had antibacterial activities. Further more, it was revealed that puchiin extracts had strong anti-microbial activity against bacterial tested under the condition pH 7. Minimum inhibitory concentration value of extracts to *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Bacillus subtilis* was 0.63, 1.25, 1.25 g/L respectively, which was stronger than that of potassium sorbate. Antimicrobial activity against molds and budding fungus was weaker than that of potassium sorbate.

Key words: puchiin; antimicrobial properties; minimum inhibitory concentration

荸荠英又称作马蹄黄,在荸荠果皮与果肉之间的部位富集比较多,《中药大辞典》中认为荸荠英是荸荠中主要的活性物质^[1]。我国作为荸荠生产大国,产品仅限于马蹄淀粉、马蹄饮料等的生产,而荸荠皮往往被作为产品废料弃去,例如某马蹄粉厂日产淀粉 30 t,含水量为 88% 的湿渣则高达 185 t,如果能够将这些废弃物加以利用,生产出一种天然抑菌防腐剂,对增加产品附加值将具有积极的意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 菌种及其来源 细菌:枯草芽孢杆菌 *Bacillus subtilis*、金色葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、大肠杆

菌 *Escherichia coli*、沙门氏菌 *Salmonella* sp.; 酵母菌:啤酒酵母 *Saccharomyces cerevisiae*、假丝酵母 *Candida* sp.; 霉菌:黑曲霉 *Aspergillus niger* van、米曲霉 *Aspergillus oryzae*。以上菌种由华南农业大学食品微生物教研室提供。混合细菌:参考郭新竹等^[2]的方法,将室温下放置变质的牛乳中的混合微生物菌群作为供试混合细菌,以 V(细菌):V(培养基) = 1:100 的比例接种于肉汤培养基中,37℃ 培养 6 h 后供试验用。

1.1.2 培养基 营养琼脂培养基(培养细菌)、马铃薯培养基(培养真菌)、麦芽汁琼脂培养基(培养酵母菌)、肉汤培养基,均购于广东环凯微生物科技有限公司。

1.1.3 荸荠英提取物的制备 荸荠英粗品取自于

收稿日期:2005-01-14

作者简介:郝淑贤(1972-),女,助理研究员,硕士,E-mail:susanhao2001@163.com

基金项目:广东省社会发展攻关项目(A30305)

某马蹄粉厂,荸荠英粗品用 $\varphi=95\%$ 的乙醇于室温下浸提1周,浸提液过滤,滤渣重复浸提2次,合并滤液,于50℃下浓缩,得棕色膏状物即为待测荸荠英提取物,提取物pH为中性。

1.2 试验方法

1.2.1 提取物对混合细菌生长适应期的影响 参考林捷等^[3]的方法,将混有提取物的培养基混匀后倾注平皿,琼脂凝固后划线接种混合细菌,于37℃培养,观察细菌开始生长的时间,以添加同样量丙二醇的培养基为对照。试验重复3次,取平均值。

1.2.2 抑菌谱的确定 滤纸片法:参考程丽娟等^[4]的方法,将提取物用乙醇溶解(pH=7),山梨酸钾用水溶解($\rho=600\text{ g/L}$, pH=7),将滤纸片于待测液中浸湿,取出晾干后平铺于含菌培养皿中,在适宜的温度下培养一定时间(细菌37℃,12h;霉菌28℃,48h;酵母菌28℃,24h)后,测定抑菌圈直径。同时以乙醇浸过的滤纸片作对照。试验重复3次,取平均值。

1.2.3 最低抑菌浓度(MIC)的确定 提取物用少量的丙二醇溶解,参考张治琰^[5]的方法,以平板+涂布法进行最低抑菌浓度试验。以添加同样量丙二醇的培养基为对照。试验重复3次,取平均值。

2 结果与分析

2.1 提取物的抑菌活性

提取物对微生物生长适应期的影响结果如图1所示,随着提取物质量浓度的提高,微生物开始生长所需的时间延长,这是因为微生物转种到新的培养

基后,首先调节体内酶系使之适应环境的变化,然后才开始分裂繁殖进入对数生长期快速增长。当提取物质量浓度达到10 g/L时,接种混合细菌的培养基经73 h的培养仍无细菌生长,这表明荸荠英提取物具有一定的抑菌活性,有必要对其进行进一步研究。

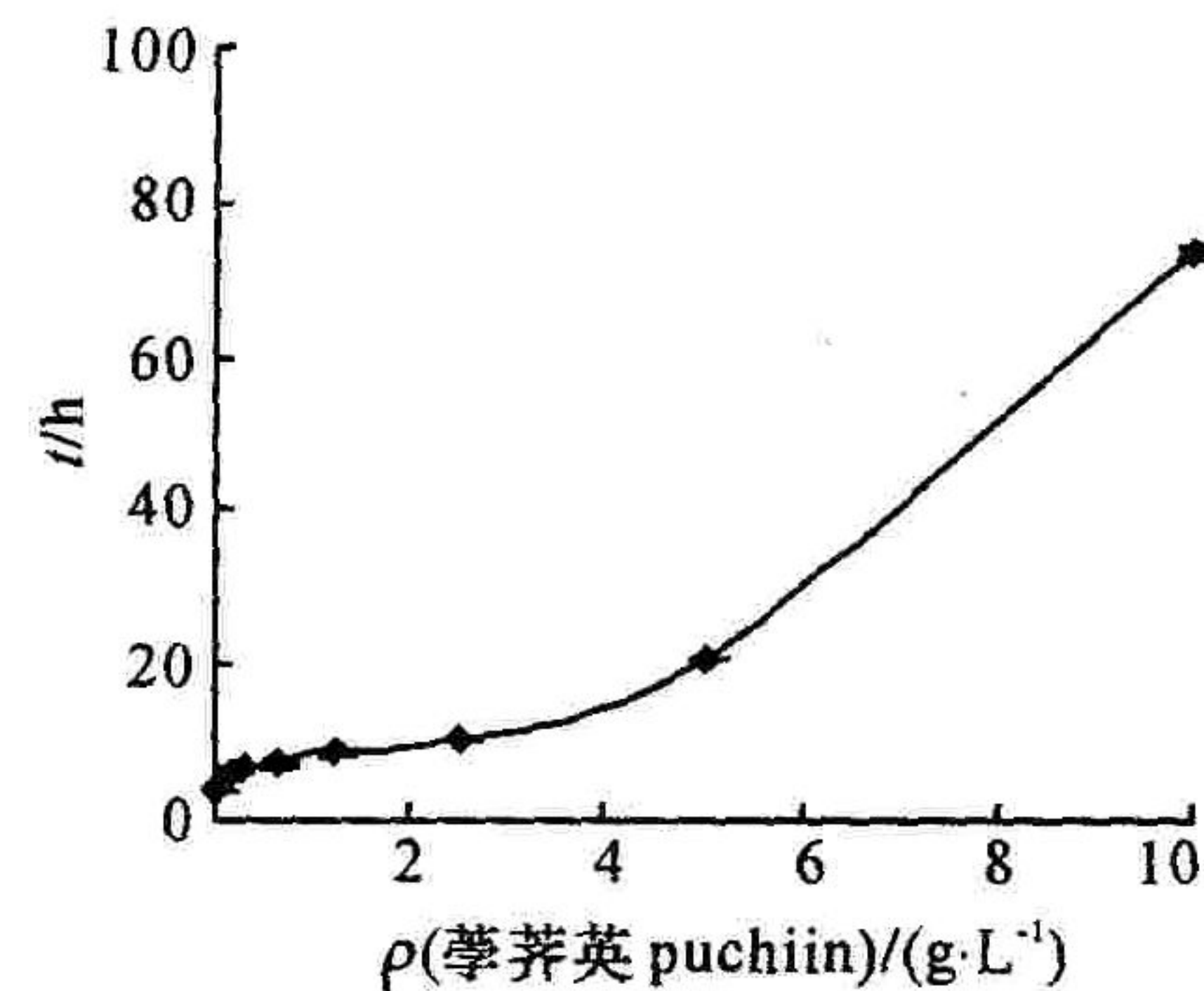


图1 不同浓度荸荠英提取物对微生物生长适应期的影响
Fig. 1 Antimicrobial capability of puchiin extracts with different concentration

2.2 抑菌谱的确定

由表1可知,在中性条件下,提取物对所选细菌的抑菌效果较好,且抑菌活性具有量效关系,特别是对细菌中大肠杆菌和金色葡萄球菌的抑菌效果好,质量浓度为31.3 g/L仍具有明显的抑菌现象,当质量浓度为500 g/L时抑菌活性高于同条件下质量浓度为600 g/L的山梨酸钾。但对所选酵母和霉菌除假丝酵母略显抑菌效果外,其余均不显示抑菌活性。而山梨酸钾的情况正好与之相反,在中性条件下对霉菌及酵母的抑制能力强于细菌。

表1 荸荠英提取物及山梨酸钾对常见污染菌的抑菌状况

Tab. 1 Antimicrobial effects of puchiin extracts and potassium sorbate

试验菌种 test bacteria	d (抑菌圈 inhibitory circle)/mm						
	ρ (荸荠英 puchiin)/(g·L ⁻¹)					山梨酸钾 ¹⁾	对照 ²⁾
	500.0	250.0	125.0	62.5	31.3	potassium sorbate	control
金色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	15.2±0.3	9.0±0.1	7.7±0.6	7.3±0.4	5.9±0.2	14.5±0.6	5.5
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	8.8±0.4	8.6±0.2	7.2±0.2	6.8±0.2	6.3±0.1	6.2±0.2	5.5
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	12.1±0.2	9.3±0.1	8.7±0.2	7.7±0.2	7.2±0.2	8.7±0.4	5.5
沙门氏菌 <i>Salmonella</i> sp.	8.2±0.4	7.2±0.2	6.5±0.1	5.5	5.5	11.3±0.4	5.5
假丝酵母 <i>Candida</i> sp.	7.0±0.8	5.5	5.5	5.5	5.5	11.5±0.2	5.5
啤酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	11.1±0.6	5.5
米曲霉 <i>Aspergillus oryzae</i>	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	23.8±0.2	5.5
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i> van	5.5	5.5	5.5	5.5	5.5	16.4±0.5	5.5

1) ρ (山梨酸钾)=600 g·L⁻¹;2)对照为乙醇浸过的滤纸片

在平板涂布过程中,为解决荸荠英提取物与水难形成良好互溶性这一问题,本试验先用一定浓度的丙二醇溶液将样品溶解,再定量加入到培养基中,在对照样中也加入同样量的助溶剂丙二醇,结果发现,加入

助溶剂的对照样与不加助溶剂的样品同时长菌,从而排除了助溶剂对待测样的影响。

2.3 最低抑菌浓度的确定

表2进一步证实了荸荠英提取物对细菌的抑菌

能力大于对酵母和霉菌的抑菌能力,其中对金色葡萄球菌的抑菌质量浓度可低至 0.63 g/L,对枯草芽孢杆菌、大肠杆菌、沙门氏菌的最低抑菌质量浓度则为 1.25 g/L. 而山梨酸钾的结果正好相反,对酵母和

霉菌的最低抑菌浓度强于荸荠英提取物,只有当山梨酸钾的质量浓度达到 40 g/L 时,对细菌才显示抑菌活性,而对酵母和霉菌在 2.5 g/L 时即有活性,这一结果与前述滤纸片法的结果相吻合.

表2 荸荠英提取物及山梨酸钾对食品常见污染菌的最低抑菌浓度¹⁾

Tab.2 Minimum inhibitory concentration of puchiin extracts and potassium sorbate

试验菌种 test bacterials	ρ (荸荠英 puchiin)/(g · L ⁻¹)								ρ (山梨酸钾 potassium sorbate)/(g · L ⁻¹)					
	40	20	10	5	2.5	1.25	0.63	0	40	20	10	5	2.5	0
枯草芽孢杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
沙门氏菌 <i>Salmonella</i> sp.	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+
金色葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
啤酒酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
假丝酵母 <i>Candida</i> sp.	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	+	+
米曲霉 <i>Aspergillus oryzae</i>	-	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+
黑曲霉 <i>Aspergillus niger</i> van	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+

1) -:表示没有菌生长;+:表示有菌生长

本次试验采用滤纸片及平板涂布 2 种方法对荸荠英提取物的抑菌性进行研究,其中滤纸片法观察效果较为直观,但由于该法的原理是利用抑菌剂的扩散作用,而大多数植物提取物是一个非完全水溶性的混合物,扩散性差,因此抑菌圈虽是较好的定性检测依据,但不能准确反映提取物对菌体的抑制情况,因此,以滤纸片法与 MIC 平板涂布法结合来鉴定荸荠英提取物的抑菌效果既直观又准确.

参考文献:

[1] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术

出版社,1986:1798-1799.

- [2] 郭新竹,宁正祥,黄志良. 核酸发酵液抑菌成分的分离提取[J]. 食品与发酵工业,2001,27(8): 13-16.
- [3] 林捷,吴锦铸,朱新贵,等. 柚皮提取物的抑菌作用研究[J]. 华南农业大学学报,1999,20(3):59-62.
- [4] 程丽娟,唐明,袁静,等. 微生物学实验技术[M]. 北京:科学技术出版社,1993:57-61.
- [5] 张治琰. 抗生素药品检验[M]. 北京:人民卫生出版社,1987:80-97.

【责任编辑 李晓卉】

(上接第 114 页)

品种(组合)生物产量,应加强对株高和心叶下 1 叶长度的选择. 这可作为华南早籼超级稻幼穗第 2 次枝梗及颖花原基分化期理想形态性状选择的方向. 根据本试验结果提出了华南早籼超级稻幼穗第 2 次枝梗及颖花原基分化期的理想形态性状指标为:株高 85 ~ 90 cm;主茎叶片数为 11 片左右(叶龄余数为 2.2 ~ 2.9);每穗茎数为 18 ~ 20 条;心叶下 1 叶长、宽分别为 53 ~ 61 和 1.37 ~ 1.39 cm;心叶下 2 叶长、宽分别为 42 ~ 48 和 1.29 ~ 1.34 cm;心叶开张角为 10 ~ 22°. 可作为华南早籼超级稻“动态株型结构”育种实践中该时期的选汰指标.

参考文献:

[1] DONALD C M. The breeding for crop ideotype[J]. Euphytic,1968(17):385-403.

- [2] 杨守仁. 杨守仁水稻文选[M]. 沈阳:辽宁科技出版社,1998:266-353.
- [3] IRRI. IRRI towards 2000 and beyond[M]. Manila:IRRI,1989:36-37.
- [4] IRRI. A new plant type[J]. The IRRI reporter,1991(3):1.
- [5] IRRI. IRRI redesign rice plant to yield more grains[J]. The IRRI Reporter,1994(4):1-2.
- [6] 袁隆平. 杂交水稻超高产育种[J]. 杂交水稻,1997,12(6):1-6.
- [7] 周开达,汪旭东,李仕贵,等. 亚种间重穗型杂交稻研究[J]. 中国农业科学,1997,30(5):91-93.
- [8] 程式华,翟虎渠. 水稻亚种间超高产杂交组合若干株型因子的比较[J]. 作物学报,2000,26(6):713-718.
- [9] 陈友订,万邦惠,张旭. 华南早籼超级稻分蘖盛期理想形态性状研究[J]. 中国农业科学,2004,37(7):973.

【责任编辑 周志红】